

**CHIROPTISCHE EIGENSCHAFTEN
VON UMKEHRMIZELLEN UND ORGANOGELLEN**

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels eines
Doktors der Naturwissenschaften
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von
Luca. M. Colombo
Dipl. Chem. ETH
geboren am 2. April 1962
von Cureggia (TI)

Angenommen auf Antrag von
Prof. P.L. Luisi, Referent
Prof. W. Simon, Korreferent

Ref Luisi

Zürich 1991



CatE

1. KURZFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurden die spektroskopischen und insbesondere die chiroptischen Eigenschaften von einigen chiralen Tenside -und zwar der synthetisierten AOT-Derivaten, Natrium bis (2-S-methyl-butyl) sulfosuccinat, Natrium bis (phenyl-ethyl) sulfosuccinat, Natrium bis (2-S-octyl) sulfosuccinat und Natrium bis (dehydrocitronelloyl) sulfosuccinat, deren Thermodynamik (mit Hilfe von Stabilitäts- und Phasendiagramme) und Aggregationsstruktur -Form und Grösse- (mit Hilfe von Lichtstreuungsmessungen), untersucht. Solche Untersuchungen wurden auch an natürlichen Lecithinen und an einer Reihe kurzkettiger synthetischer Lecithine (C_5 - C_{10})- in apolaren Lösungsmitteln durchgeführt. Die UV- und Circular dichroismus-Eigenschaften der in Umkehrmizellen und Lecithingelen aggregierten Tenside wurden mit der Ziel untersucht, um abzuklären, ob die Bildung dieser Aggregate von der Erscheinung neuer Banden infolge spezifischer chromophorischer Perturbationen begleitet ist. Zum ersten Mal konnte im Falle von Natrium bis(S-2-octyl) sulfosuccinat die charakterische Erscheinung dichroistischer Banden in Verbindung mit der Bildung von Umkehrmizellen nachgewiesen werden.

Es konnte auch gezeigt werden, dass sowohl im Falle der natürlichen Lecithine als auch im Falle der synthetischen Lecithine die Bildung der Umkehrmizellen ein spezifisches dichroistisches Signal bei ungefähr 200 nm induziert.

Da es bekannt ist, dass die physikalischen Eigenschaften der Umkehrmizellen stark von der Wassermenge, definiert als $w_0 = [\text{Wasser}]/[\text{Tensid}]$, abhängig sind, wurden die chiroptischen Eigenschaften als Funktion von w_0 untersucht. Es wurde gefunden, dass im Allgemeinen je grösser der w_0 -Wert ist, umso kleiner die molare Elliptizität wird.

Im Falle der kurzkettigen synthetischen Lecithine, welche die spektroskopischen Untersuchungen in einem breiten w_0 -Bereich ermöglichen, findet ein Wechsel des Vorzeichens des Cotton-Effektes beim Vergrössern der Wasserzugabe sogar statt.

Die chiroptischen Untersuchungen wurden an Lecithingele, welche sich im Falle von Lecithin aus Soya spontan durch Zugabe von kleinen Wassermengen ($w_o \sim 3$) zu einer Lecithinlösung in Isooktan, erweitert.

Im diesem Falle verursacht die Wasserzugabe eine signifikante und progressive Zunahme der UV-Absorption und bemerkenswerte Veränderungen des CD-Spektrum in der Region des Esterchromophors.

Ein Minimum wird bei $w_{o, gel}$ erreicht, bei jenem w_o -Wert, bei welchem das System die grösste Viskosität aufweist.

Man kann daraus schliessen, dass durch die Bildung der aus Lecithin aufgebauten, supramolekularen Umkehrmizellen- und Gel-Strukturen spezifische spektroskopische Perturbationen hervorgerufen werden und neue dichroistische Banden auftreten.

Diese spektroskopischen Änderungen werden als Folge von Konformationsänderungen der Lecithin-moleküle in Abhängigkeit der lokalen Umgebung in der mizellaren- und Gelzustand erklärt.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden dann die spektroskopischen (UV, CD, und Fluoreszenz) Eigenschaften sowohl einiger in den Gelen solubilisierter Peptide, Enzyme und Proteine als auch einiger pharmakologisch wichtigen Substanzen, wie z.B. Anthralin, eine Arznei, die gegen die Hautkrankheit "psoriasis vulgaris" eine breite Anwendung findet, studiert.

Es kann gezeigt werden, dass dank der Transparenz und Stabilität der Gele diese spektroskopischen Methoden direkt angewendet werden können, sodass die Struktur und Konformation von in den Lecithingelen eingebetteten Biowirkstoffen untersucht werden kann.

Die Resultate zeigen, dass im Vergleich mit wässrigen Lösungen nur geringe konformationellen Unterschiede der solubilisierten Verbindungen auftreten.

2. ABSTRACT

The presented work is dealing with the chiroptical properties of some chiral tensides. In the first part of this work four optical active analogues of the surfactant Aerosol-OT (AOT), namely sodium bis(2-S-methyl-butyl) sulfosuccinate, sodium bis(2-S-octyl) sulfosuccinate, sodium bis(S-phenyl-ethyl) sulfosuccinate and sodium bis(dihydrocitronellol) sulfosuccinate, which have been synthesized and their thermodynamics (e.g. phase- and stability diagrams) and aggregation structure (form and size) by means of light scattering have been studied, as well as naturally occurring lecithin, a synthetic lecithin and a series of short chain lecithins were investigated.

The reverse micellar solutions formed by all of these tensides in apolar solvents have been investigated by UV-absorption and circular dichroism spectroscopies with the aim of clarifying whether the formation of the macromolecular, non covalent aggregates induces the appearance of new chromophoric bands or perturbs the existing ones.

For the first times it was shown that, in the case of one of the AOT-analogues, sodium bis(2-S-octyl) sulfosuccinate (MH-AOT), the formation of reverse micelles was accompanied by a specific increase in the intensity of the circular dichroism band associated with the ester absorbance of the molecule.

It has been shown that, for both soybean phosphatidylcholine and palmitoyl-oleoyl-phosphatidylcholine (which form gels), as well as for short chain synthetic lecithins, the formation of reverse micelles induces a specific negative dichroic signal at around 200 nm.

The chiroptical studies were performed as a function of the added amount of water, w_o , defined as [water]/[tenside], as the physical properties of reverse micelles depends strongly on this parameter.

In the case of short chain lecithins the spectroscopic observations can be extended over a large water concentration range $w_{o,max} \sim 60$. In these compounds the increase of water content is attended by a change of sign of the dichroic band in the 210 nm region, i.e. this band becomes positive at

higher water contents ($w_0 > 10$ ca.).

These studies were then extended to lecithin gels, which, in the case of soybean lecithin, are spontaneously formed by the addition of small amounts of water ($w_0 = 3$ for isooctane) to the lecithin solutions.

Addition of water brings about a significant and progressive increase in the UV absorbance whereas the molar ellipticity becomes less negative by increasing and reaches a minimum with gel formation.

It was concluded that these observations reflected conformational events occurring within the surfactant, due to the formation of the macromolecular reverse micellar structures, rather than chromophoric perturbation.

These data could be interpreted in a consistent picture, whereby the "anhydrous" lecithin reverse micelles is related to a strong negative band of the ester chromophore, and the "hydrated" lecithin micelles (and the gel structure) are connected to a strong positive CD band in the same spectral region.

In the second part of this work the spectroscopic (UV, CD, fluorescence) properties of some peptides, enzymes, proteins and of some compounds of pharmacological interest such as anthralin, a drug which finds a broad application in the treatment of the skin disease "*psoriasis vulgaris*", solubilized into the lecithin gels were studied.

It has been shown that, due to the transparency and the stability of the gels, all these spectroscopic methods could be directly utilized in order to study the structure and the conformation of the compounds solubilized into the gels.

It has been found that, in comparison to water solutions, only minor conformational changes of the solubilized compounds took place.